AHG

TEST À L'ANTIGLOBULINE HUMAINE (TEST DE COOMBS)

Réf. Catalogue
1/312i 10ml (vert) ; 1/304i 10ml (incolore)
1/312 10 x 10ml (vert) ; 1/312c 10 x 10ml (incolore)
1/312-1L 1000ml (vert) ; 1/312C-1L1000ml (incolore)

INTRODUCTION

Ce réactif polyspécifique est **exclusivement pour usage professionnel diagnostique *in vitro*** pour la détection de l'IgG et des anticorps érythrocytaires de liaison de complément par tests directs et indirects à l'antiglobuline.

Les anticorps (immunoglobulines) peuvent s'attacher à la surface des cellules érythrocytaires humaines *in vivo* ou *in vitro*. Un revêtement *in vivo* peut se présenter si l'organisme produit un auto-anticorps s'opposant à un autoantigène situé sur les érythrocytes de l'organisme même. Un revêtement *in vitro* peut se présenter au cours de tests sur de détermination du groupe sanguin, de tests de compatibilité avant transfusion et de tests visant à détecter et observer les anticorps atypiques.

CONTENU DU PRODUIT

Le réactif à l'antiglobuline humaine de BIOTEC contient de l'IgG anti-humaine ovine et de l'anti-C3d humaine. Il contient également <0,1 % d'azide de sodium comme agent de conservation.

Le produit fini contient ce qui suit :

- Réactif à l'antiglobuline humaine: 10ml (1/312i & 1/304i) ***ou*** 10x10ml (1/312 & 1/312c) ***ou*** 1000ml (1/312-1L & 1/312C-1L)
- 1 mode d'emploi

MATÉRIEL REQUIS MAIS NON FOURNI

- Solution saline physiologique (0,85 % NaCl, pH 7,0)
- Albumine bovine à 22% ou 30%
- Tubes ou lames pour essais
- Contrôles (voir 'Contrôle de Qualité')
- Pipettes
- Centrifugeuse

CONSERVATION ET DURÉE DE CONSERVATION

- Conserver entre 2 et 8°C.
- Ne pas utiliser en cas de turbidité ou de présence de précipité ou particules.
- Ne pas diluer.
- Le réactif est stable jusqu'à la date de péremption inscrite sur l'étiquette du produit.

AVERTISSEMENTS ET PRÉCAUTIONS

- Il est conseillé aux utilisateurs de s'assurer avec soin du caractère approprié du réactif avant usage dans des méthodes alternatives.

- Un lavage insuffisant des érythrocytes peut provoquer une neutralisation du réactif à l'antiglobuline humaine.

- Après complétion de la phase de lavage, tout excès de solution saline résiduelle pourrait diluer le réactif à l'antiglobuline humaine au-delà des taux recommandés si ajoutée.
- Notez que les conditions recommandées pour la centrifugeuse sont exprimées comme force centrifuge relative ou FCR. Voir les orientations du fabricant de la centrifugeuse pour les paramètres équivalents.

- Les tests doivent être lus conformément au protocole 'tip and roll". Des secousses excessives peuvent rompre une faible agglutination et produire de faux résultats négatifs.

- Si des dispositifs automatiques de lavage de cellules sont utilisés, les performances et la propreté de l'instrument devront être contrôlées fréquemment.

- Des faux résultats peuvent apparaître suite à contamination du matériel de test, à une mauvaise température de réaction, à des conditions inappropriées de conservation du matériel, à l'omission du réactif de test et à certains états pathologiques.

- Aucun test ne peut détecter tous les anticorps cliniquement significatifs.

- Il n'existe aucune garantie que les produits dérivés de sources humaines ou animales ne sont pas susceptibles de transmettre des agents infectieux. Il convient donc de faire particulièrement attention dans la manipulation et l'élimination de ce produit.

PRÉPARATION DU SPÉCIMEN

Les spécimens doivent être prélevés au moyen de techniques aseptiques avec ou sans anticoagulant. Des tests directs à l'antiglobuline doivent toutefois être effectués avec des cellules fraîches prélevées dans un anticoagulant à l'EDTA afin d'éviter toute sensibilisation *in vitro* avec le complément.

Le spécimen doit être testé aussi rapidement que possible après le prélèvement. Si le test est repoussé, le spécimen doit être conservé entre 2 et 8°C. Des spécimens sanguins présentant un fort degré d'hémolyse ou de contamination ne doivent pas être utilisés. Des spécimens coagulés ou ceux prélevés dans de l'EDTA doivent être soumis aux tests dans les sept jours à compter de la date du prélèvement.

PROTOCOLES

TEST INDIRECT: MÉTHODE SUR LAME

1. Préparer une suspension à 2-4% avec les érythrocytes à soumettre au test dans une solution saline (0,85% NaCl, pH 7,0).
2. Placer ce qui suit dans un petit tube de test:
   - 2 volumes du sérum à tester
   - 1 volume de suspension érythrocytaire à 2-4%
   - 1 volume d'albumine bovine BIOTEC à 22 ou 30%.
3. Bien mélanger et laisser incuber à 37°C pendant 30 minutes.

BIOTEC Laboratories Ltd • 32 Anson Road • Martlesham Heath • Ipswich • Suffolk • IP5 3RG • Royaume-Uni
Tél. : +44 (0) 1473 612158 • Fax : +44 (0) 1473 611476 • Site Internet : www.biotec.com • Email : technical@biotec.com

4. Laver les cellules 4 fois dans de grosses quantités de solution saline physiologique. Laisser décanter complètement au dernier lavage.
5. Remettre en suspension les cellules à 2-4% dans une solution saline physiologique.
6. Mélanger ce qui suit sur une plaque ou une lame propre.
   - 1 volume de réactif BIOTEC à l'antiglobuline humaine
   - 1 volume de cellules lavées en suspension à 2-4%
7. Laisser reposer à température ambiante pendant 5 minutes.
8. Faire balancer doucement la plaque et chercher des signes d'agglutination sur une source lumineuse.

TEST INDIRECT: MÉTHODE EN TUBE

1. Préparer une suspension à 2-4% avec les érythrocytes à soumettre au test dans une solution saline physiologique (0,85% NaCl, pH 7,0).
2. Placer ce qui suit dans un petit tube de test:
   - 2 volumes du sérum à tester
   - 1 volume de suspension érythrocytaire à 2-4%
   - 1 volume d'albumine bovine BIOTEC à 22 ou 30%.
3. Bien mélanger et laisser incuber à 37°C pendant 30 minutes.
4. Laver les cellules 4 fois dans de grosses quantités de solution saline physiologique. Laisser décanter complètement au dernier lavage.
5. Ajouter 2 volumes de réactif BIOTEC à l'antiglobuline humaine
6. Bien mélanger et centrifuger à 100 FCR (1000 t/min) pendant 1 minute.
7. Agiter le tube doucement et examiner macroscopiquement pour détecter toute trace d'agglutination. Les négatifs peuvent être examinés au microscope.

TEST DIRECT: MÉTHODE SUR LAME

1. Laver les cellules à tester dans de grosses quantités de solution saline physiologique. Laisser décanter au dernier lavage.
2. Préparer une suspension à 2-4% d'érythrocytes lavés dans une solution physiologique saline.
3. Mélanger ce qui suit sur une plaque ou une lame propre:
   - 1 volume de réactif BIOTEC à l'antiglobuline humaine
   - 1 volume de suspension érythrocytaire à 2-4%
4. Laisser reposer à température ambiante pendant 5 minutes.
5. Faire balancer doucement la plaque et chercher des signes d'agglutination sur une source lumineuse.

TEST DIRECT: MÉTHODE EN TUBE

1. Laver les érythrocytes à tester 4 fois dans de grosses quantités de solution saline physiologique. Laisser décanter complètement au dernier lavage.
2. Remettre en suspension les érythrocytes à 5% dans une solution saline physiologique.
3. Placer ce qui suit dans un petit tube de test :
   - 2 volumes de réactif BIOTEC à l'antiglobuline humaine
   - 1 volume de suspension érythrocytaire à 5%.
4. Mélanger et centrifuger à 100 FCR (1000 t/min) pendant 1 minute.
5. Agiter le tube doucement et examiner macroscopiquement pour détecter toute trace d'agglutination. Les négatifs peuvent être examinés au microscope.

INTERPRÉTATION

Résultats

Agglutination	= résultat positif
Aucune agglutination	= résultat négatif

Contrôle de Qualité

Pour chaque lot d'essais de dépistage d'anticorps entrepris par test à l'antiglobuline humaine, un contrôle positif et un autre négatif doivent être prévus.

Le contrôle positif doit être un anti-D faible (0,2 IU/ml); le contrôle négatif doit être un sérum inerte soumis à épreuve par confrontation aux cellules de dépistage d'anticorps utilisées. Si le contrôle positif à anti-D faible a été dilué pour utilisation, il doit être dilué dans du sérum ou du plasma pour servir de contrôle de lavage (remarque: si le diluant est une solution saline/albumine bovine, le test de contrôle pourrait être positif même si le lavage de cellule était sous-optimal et suffisant à donner un résultat atténué ou faussement négatif avec un échantillon contenant des anticorps).

CARACTÉRISTIQUES DE PERFORMANCE

Les érythrocytes positifs au test direct à l'antiglobuline ne doivent pas être utilisés dans le test indirect à l'antiglobuline.

RÉFÉRENCES

1. Guidelines for the Blood Transfusion Services in the United Kingdom. 3e édition. 1996.
2. Flynn, J. C Jr., Essentials of Immunohaematology. W. B. Saunders Company, 1998.

BIOTEC Laboratories Ltd • 32 Anson Road • Martlesham Heath • Ipswich • Suffolk • IP5 3RG • Royaume-Uni
Tél. : +44 (0) 1473 612158 • Fax : +44 (0) 1473 611476 • Site Internet : www.biotec.com • Email : technical@biotec.com